

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2007 年 11 月 29 日 (29.11.2007)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2007/135910 A1

## (51) 国際特許分類:

C08G 81/00 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)  
A61K 31/365 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 31/7048 (2006.01) C08G 85/00 (2006.01)  
A61K 47/34 (2006.01)

薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 柴田 雅夫 (SHI-BATA, Masao) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3 1-1 2 日本化薬株式会社 医薬開発本部内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/060026

(22) 国際出願日: 2007 年 5 月 16 日 (16.05.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願 2006-138509 2006 年 5 月 18 日 (18.05.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本化薬株式会社 (NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1028172 東京都千代田区富士見一丁目 1 1 番 2 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 北川 正行 (KITA-GAWA, Masayuki) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3 1-1 2 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 石川 恵三 (ISHIKAWA, Keizou) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3 1-1 2 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 山本 啓一郎 (YAMAMOTO, Keiichirou) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3 1-1 2 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 高塩 一俊 (TAKASHIO, Kazutoshi) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3 1-1 2 日本化

(74) 代理人: 川口 義雄, 外 (KAWAGUCHI, Yoshio et al.); 〒1020094 東京都千代田区紀尾井町 7 番 1 号 上智紀尾井坂ビル 川口国際特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: POLYMER CONJUGATE OF PODOPHYLLOTOXIN

(54) 発明の名称: ポドフィロトキシン類の高分子結合体

(57) Abstract: A novel podophyllotoxin derivative, which is capable of releasing a drug without depending on biological enzymes and can be expected to have an effective therapeutic effect and is soluble in water has been demanded. A polymer having a polyethyleneglycol structural unit and two or more succinic monoamide structural units, particularly a polymer conjugate of a podophyllotoxin in which a carboxylic acid group of polyethyleneglycol/ polyaspartic acid copolymer and a hydroxyl group of podophyllotoxin are linked via an ester bond is provided.

(57) 要約: 【課題】生体の酵素に依存することなく薬剤放出が可能であり、有効な治療効果が期待でき、且つ、水溶性を有するポドフィロトキシン類の新規誘導体が求められている。【解決手段】ポリエチレングリコール構造部分と 2 以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマー、特にポリエチレングリコール部分-ポリアスパラギン酸共重合体のカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基がエステル結合しているポドフィロトキシン類の高分子結合体を提供する。

WO 2007/135910 A1

## 明 細 書

### ポドフィロトキシン類の高分子結合体

#### 技術分野

- [0001] 本発明は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基がエステル結合しているポドフィロトキシン類の高分子結合体、その製造方法及びその用途に関する。

#### 背景技術

- [0002] ポドフィロトキシンは、多年草ポドフィルム属のアメリカヤオソウの根や茎からの水抽出物に含有される生理活性物質であり、ポドフィロトキシンやその誘導体は抗癌活性を有することが知られている。しかし、これらの化合物は水に難溶性のものが多く、又、更なる有効性向上を目指してポドフィロトキシン類の水溶性高分子化誘導体等の研究が行われてきた。
- [0003] 例えば、特許文献1には、ポリエチレングリコールを結合したポドフィロトキシンの高分子誘導体について記載されている。しかしながら、このポドフィロトキシンの高分子誘導体は、構造上ポリエチレングリコール一分子に対して1～2個のポドフィロトキシン分子しか結合できず、その結果、有効量の薬剤を投与するためには大量のポリマーの投与が必要となる。
- [0004] 特許文献2には、ミセルを形成し水溶性を示すポリエチレングリコールとポリアスパラギン酸のブロック共重合体に薬剤を結合した分子が記載されており、特許文献3には、ポリエチレングリコール類とポリ酸性アミノ酸とのブロック共重合体の側鎖カルボン酸に疎水性物質を結合した高分子薬物運搬体となる高分子担体が記載されている。特許文献4には、ポリエチレングリコール類とポリグルタミン酸とのブロック共重合体の側鎖カルボン酸基と、カンプトテシン類のフェノール性水酸基とを結合させたカンプトテシン類の高分子誘導体が記載されている。しかしながら、特許文献2～4にはポドフィロトキシン類の結合体については記載されていない。
- [0005] 特許文献1:特表平10－513187号公報  
特許文献2:特許第2694923号公報

特許文献3:特許第3268913号公報

特許文献4:国際公開第2004/39869号パンフレット

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0006] 特許文献1に記載のポリエチレングリコール類部分と薬剤との結合は、生体の加水分解酵素により切断されるものであり、それにより薬剤の運搬と放出を制御している。しかしながら、生体の加水分解酵素は、種差はもとより同一種においても個体差が大きいと考えられており、薬剤との結合の切断を加水分解酵素に依存することは放出される薬剤による効果に個体差を生じることが危惧される。

[0007] 特許文献2に記載されているアドリマイシン結合体は、ブロック共重合体とアドリマイシンがアミド結合で結合されているが、アミド結合は化学的に安定な結合様式であるため加水分解による薬剤の放出が遅く、その薬効に疑問がある。

エトポシドやテニポシド等のポドフィロトキシン類は有用な抗癌剤であり、水溶性を有し抗癌活性に優れる新規な誘導体が求められている。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者等は上記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、コハク酸モノアミド構造の遊離のカルボン酸に水酸基を有する化合物がエステル結合していると、コハク酸モノアミドが環化構造(コハク酸イミド)へ変化するに伴って水酸基を有する化合物を遊離しやすいという現象から、ポリエチレングリコール構造部分とコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーとポドフィロトキシンの水酸基とがエステル結合したポドフィロトキシンの高分子結合体を製造したところ、該高分子結合体が加水分解酵素に依存することなくポドフィロトキシン類を放出することを見出し、本発明を完成した。

[0009] 即ち、本発明は、以下の(1)～(10)に関する。

(1)ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシンの水酸基がエステル結合しているポドフィロトキシンの高分子結合体。

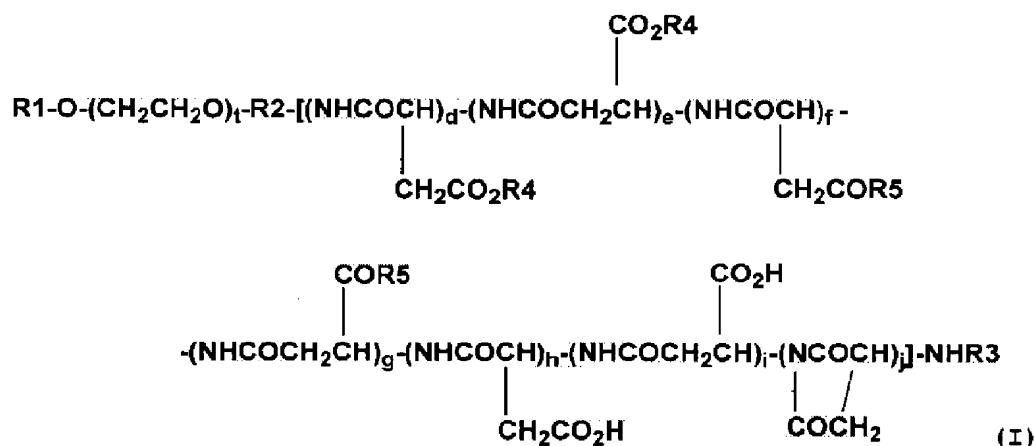
(2)ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーがブロック共重合体である上記(1)記載のポドフィロトキシンの高分子結合

体。

(3) 2以上のコハク酸モノアミド構造部分がポリアスパラギン酸である上記(2)に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。

(4) 高分子結合体が一般式(I)

[0010] [化1]



[式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はポドフィロトキシン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、d、e、f、g、h、i及びjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つ、d+e+f+g+h+i+jは3～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物である上記(3)記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。

(5) R1が(C1～C6)アルキル基であり、R2が(C2～C6)アルキレン基であり、R3が(C1～C6)アシル基であり、tが8～2300の整数であり、d、e、f、g、h、i及びjが各々独立に0～100の整数であり、ただしd+eは1～100の整数であり、且つd+e+f+g+h+i+jが6～100の整数である上記(4)記載のポドフィロトキシン類の高分子結合

体。

(6) R1が(C1～C3)アルキル基であり、R2が(C2～C4)アルキレン基であり、R3が(C1～C3)アシル基であり、tが100～300の整数であり、d、e、f、g、h、i及びjが各々独立に0～90の整数であり、ただしd+eは1～90の整数であり、且つd+e+f+g+h+i+jが15～90の整数である上記(5)記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。

(7) ポドフィロトキシン類がポドフィロトキシン、エトポシド又はテニポシドである上記(1)～(6)のいずれか一項に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。

(8) ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることで得られる、ポドフィロトキシン類の高分子結合体。

(9) ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることを特徴とする上記(1)～(7)のいずれか一項に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体の製造方法。

(10) 上記(1)～(8)のいずれか一項に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤。

## 発明の効果

[0011] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体は、生体の加水分解酵素に依存することなく薬剤放出が可能であり、個体差に影響されにくく有効な治療効果が期待できる。

## 発明を実施するための最良の形態

[0012] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基がエステル結合していることを特徴とする。

[0013] 本発明においてコハク酸モノアミド構造部分とは、 $\text{—HNCO—C—C—CO}_2\text{H}$ 構造を意味し、例えば、コハク酸モノアミド( $\text{—HNCO—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CO}_2\text{H}$ )や、アスパ

ラギン酸の2個のカルボン酸のうち1個がアミド化された構造( $-\text{HNCO}-\text{CH}(-\text{NH}-\text{H})-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ 、あるいは $-\text{HNCO}-\text{CH}_2-\text{CH}(-\text{NH}-)-\text{CO}_2\text{H}$ )等が挙げられる。これらコハク酸モノアミド構造部分は、例えば、ポリアスパラギン酸のようにポリマーの主鎖を構成していてもよく、あるいは、デキストラン等のポリアルコール、ポリリジン等のポリアミン、ポリアスパラギン酸以外のポリカルボン酸(例えば、ポリ乳酸等)からなる主鎖ポリマーの官能基に結合したものでもよい。

[0014] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーとしては、主鎖ポリマーからポリエチレングリコール構造部分とコハク酸モノアミド構造部分が櫛状に並んだグラフト型ポリマーや、ポリエチレングリコール構造部分とコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーが直列に結合したブロック型ポリマー(ブロック共重合体)等が挙げられる。

[0015] 2個以上のコハク酸モノアミド構造部分がポリアスパラギン酸である場合、グラフト型ポリマーにはポリアスパラギン酸の主鎖にポリエチレングリコール構造部分が部分的に結合しているポリマー等も含まれ、ブロック型ポリマーにはポリエチレングリコール構造部分の末端にポリアスパラギン酸の末端が結合したポリマー等も含まれる。

[0016] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体のポリマーにおけるポリエチレングリコール構造部分としては両末端又は片末端が修飾されたポリエチレングリコールが挙げられ、両末端が修飾されている場合、その修飾基は同一でも異なってもよい。該修飾基としては置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基が挙げられる。置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基のアルキル基としては下記のアルキル基が挙げられ、好ましくは(C1～C4)アルキル基が挙げられ、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、n-ブチル基等である。置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基の置換基としては、例えば、アミノ基、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基等が挙げられる。

[0017] ポリエチレングリコール構造部分の分子量としては300～500000程度であり、好ましくは500～100000程度、更に好ましくは1000～50000程度である。

[0018] 本発明におけるポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーの分子量は500～600000程度、好ましくは600～110000

程度、更に好ましくは800～80000程度である。

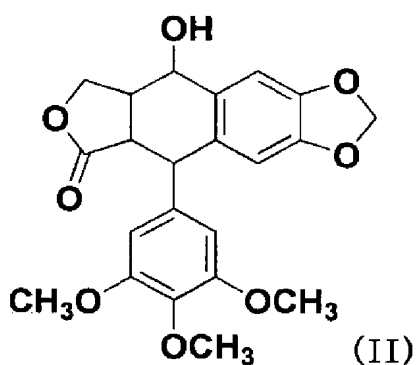
[0019] なお、本発明における分子量とはGPC法で測定した重量平均分子量である。

[0020] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体において、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーに結合するポドフィロトキシン類の結合量は、総カルボン酸基数に対して1～100%、好ましくは1～90%、更に好ましくは2～60%である。

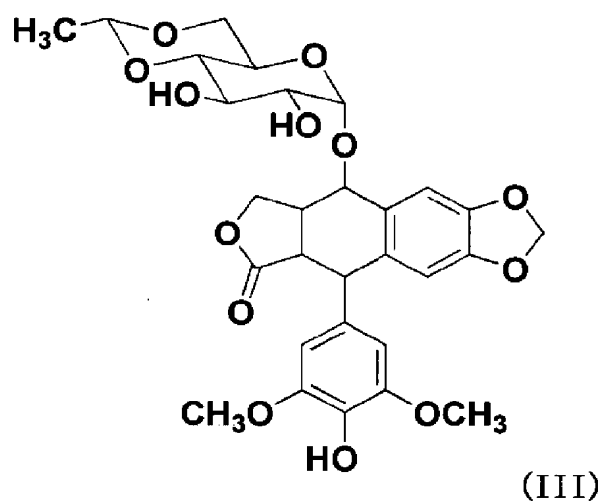
[0021] 本発明におけるポドフィロトキシン類は、水酸基を有し、且つ、抗腫瘍活性を有しているポドフィロトキシン類であれば特に限定されない。該ポドフィロトキシンとしては、例えば、下記式(II)で表されるポドフィロトキシン、下記式(III)で表されるエトポシドや下記式(IV)で表されるテニポシド等が挙げられる。ポドフィロトキシン類の水酸基とは、例えば、下記式(II)のアルコール性水酸基、下記式(III)や下記式(IV)の糖部のアルコール性水酸基やベンゼン環のフェノール性水酸基が挙げられるが、その置換位置は限定されない。

[0022] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体とは、ポドフィロトキシン類のアルコール性水酸基あるいはポドフィロトキシン類のフェノール性水酸基のいずれかにより結合した結合体、またはそれらの混合物が挙げられ、あるいは、高分子結合体一分子上にポドフィロトキシン類がアルコール性水酸基により結合したものとフェノール性水酸基により結合したものが混ざっていてもよい。

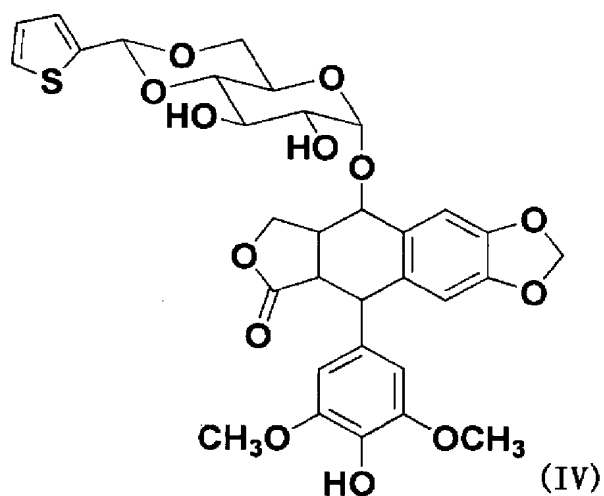
[0023] [化2]



[0024] [化3]



[0025] [化4]



[0026] 本発明において2以上のコハク酸モノアミド構造部分としてはポリアスパラギン酸が好ましい。

[0027] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体として好ましくは、上記一般式(I)〔式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はポドフィロトキシン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は



同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、d、e、f、g、h、i及びjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つd+e+f+g+h+i+jは3～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物が挙げられる。

- [0028] 一般式(I)のR1における(C1～C6)アルキル基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1～C6)アルキル基、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基、n-ペンチル基、i-ペンチル基、n-ヘキシル基等が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1～C4)アルキル基が好ましく、直鎖又は分岐鎖の(C1～C3)アルキル基、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基が特に好ましく、メチル基が殊更好ましい。
- [0029] 一般式(I)のR2で表される結合基としては、特に限定されないが(C2～C6)アルキレン基が挙げられ、(C2～C4)アルキレン基が好ましく、例えば、エチレン基、トリメチレン基、ブチレン基等が挙げられ、トリメチレン基が特に好ましい。
- [0030] 一般式(I)のR3における(C1～C6)アシル基としては、特に限定されないが、例えば、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ピバロイル基等が挙げられ、(C1～C3)アシル基が好ましく、アセチル基が特に好ましい。
- [0031] 一般式(I)のR4であるポドフィロトキシン類の水酸基の残基においてポドフィロトキシン類としては、上記のポドフィロトキシン類が挙げられ、ポリマーのカルボン酸部分と脱水縮合剤によりエステル結合をする水酸基を有し、且つ、抗腫瘍活性を有するポドフィロトキシン類であれば特に限定されない。該ポドフィロトキシン類としては、例えば、上記式(II)で表されるポドフィロトキシン、上記式(III)で表されるエトポシドや上記式(IV)で表されるテニポシド等が挙げられる。
- [0032] 一般式(I)のR5は、(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である。一般式(I)のR5としては、一分

子中同一でも異なってもよく、又、ポドフィロトキシン類の高分子結合体に使用されるポリマーにおいて単一でも混合物でもよい。

- [0033] 該(C1～C30)アルコキシ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1～C30)アルコキシ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1～C10)アルコキシ基が好ましく、例えば、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、i-プロポキシ基、n-ブトキシ基、t-ブトキシ基等が挙げられ、(C7～C30)アラルキルオキシ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C7～C30)アラルキルオキシ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C7～C12)アラルキルオキシ基が好ましく、例えば、4-フェニルブトキシ基等が挙げられる。
- [0034] 該(C1～C30)アルキルアミノ基又はジ(C1～C30)アルキルアミノ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1～C30)アルキルアミノ基又はジ(C1～C30)アルキルアミノ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1～C20)アルキルアミノ基又はジ(C1～C20)アルキルアミノ基が好ましく、例えば、メチルアミノ基、エチルアミノ基、n-プロピルアミノ基、i-プロピルアミノ基、n-ブチルアミノ基、t-ブチルアミノ基、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、ジ(n-ブチル)アミノ基等が挙げられる。
- [0035] 該カルボキシ基が保護されたアミノ酸としては、通常のペプチド合成で用いられるカルボキシ基が保護されたアミノ酸が挙げられ、例えば、フェニルアラニンベンジルエステル等が挙げられる。
- [0036] 一般式(I)のR5における-N(R6)CONH(R7)[R6、R7は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である]としては特に限定されないが、例えば、シクロヘキシルアミノカルボニルシクロヘキシルアミノ基、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基等が挙げられる。
- [0037] 本発明の上記一般式(I)で表されるポドフィロトキシン類の高分子結合体における2以上のコハク酸モノアミド構造部分であるポリアスパラギン酸には、 $\alpha$ -アミノ酸型、 $\beta$ -アミノ酸型、環化したもの等の構成単位があるが、これらの構成単位の結合順は限定されず、ブロック型でもランダム型でもよい。
- [0038] 上記一般式(I)で表されるポドフィロトキシン類の高分子結合体におけるポリアスパラギン酸の全アスパラギン酸数はd+e+f+g+h+i+jで表され、例えば、ブロック

共重合体を製造する際に用いたアスパラギン酸誘導体の量から求めることができる。該アスパラギン酸数( $d+e+f+g+h+i+j$ )は、3～200個程度であり、好ましくは6～100個程度であり、特に好ましくは15～90個程度である。

[0039] 全アスパラギン酸数( $d+e+f+g+h+i+j$ )に対するポドフィロトキシシン類の結合したアスパラギン酸数( $d+e$ )の割合は1～100%、好ましくは3～90%、更に好ましくは4～60%である。又、アスパラギン酸数( $d+e$ )としては1～200個程度、好ましくは1～100個程度、特に好ましくは1～90個程度である。

[0040] ポドフィロトキシシン類の結合したアスパラギン酸数( $d+e$ )は、例えば、下記の実施例に示すように、ポドフィロトキシシン類を有機溶媒中でエステル結合させる脱水縮合反応を行った後に、反応液中に残存する未反応のポドフィロトキシシン類の量から求めることができる。

[0041] 全アスパラギン酸数( $d+e+f+g+h+i+j$ )に対する $\alpha$ -アミノ酸型( $d+f+h$ )の割合は10～100%であり、好ましくは20～100%であり、 $\beta$ -アミノ酸型( $e+g+i$ )の割合は0～90%であり、好ましくは0～80%である。この割合は、例えば、ポリアスパラギン酸の保護基の脱保護条件等を選ぶことにより適宜変えることができる。

[0042] 上記一般式(I)の $t$ としては5～11500程度の整数であるが、好ましくは8～2300程度の整数であり、更に好ましくは100～300程度の整数である。

[0043] 本発明のポドフィロトキシシン類の高分子結合体は、水中でポリエチレングリコール構造部分を外殻とするミセルを形成してもよい。

[0044] 本発明のポドフィロトキシシン類の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシシン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることにより得られ、該製造方法も本発明に含まれる。即ち、例えば、特許文献2に記載の方法にて調製されるポリエチレングリコール構造部分-ポリアスパラギン酸のブロック共重合体と、反応させる基以外の官能基を必要に応じて保護したポドフィロトキシシン類とを、両者が溶解する有機溶媒中、好ましくはN, N-ジメチルホルムアミド(DMF)、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(DMI)、N-メチルピロリドン(NMP)等の非プロトン性極性溶媒中、0～180℃、好ましくは5～50℃でジシクロヘキシルカルボジイミ

ド(DCC)、ジイソプロピルカルボジイミド(DIPC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSC)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキシキノリン(EEDQ)等の脱水縮合剤を用いた反応に付す製造方法である。又、該縮合反応の際にN,N-ジメチルアミノピリジン(DMAP)等の反応補助剤を用いてもよい。縮合反応後、必要に応じて脱保護を行い、通常分離精製等の操作によりポドフィロトキシン類の高分子結合体が製造される。

[0045] 又、R5が-N(R6)CONH(R7)基(R6、R7は同一でも異なってもよく(C3~C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1~C5)アルキル基)であるポドフィロトキシン類の高分子結合体は、上記のカルボジイミド類を縮合剤として用いる反応によっても得られる。

[0046] 一般式(I)の化合物中のR5に(C1~C30)アルコキシ基、(C7~C30)アラルキルオキシ基、(C1~C30)アルキルアミノ基、ジ(C1~C30)アルキルアミノ基又はカルボキシ基が保護されたアミノ酸を導入する方法としては、ポリマーのカルボン酸基を活性化してから結合させたい量の対応するアルコール、対応するアミンやカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を塩基性条件下に反応させる方法、対応するアルコール、対応するアミンやカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を活性化させてからポリマーに反応させる方法等が可能である。ポリマーを精製した後に同様の反応でポリマー中の未反応のカルボン酸基を再活性化させることができ、ここにポドフィロトキシン類の水酸基を縮合させてもよく、或いは異なるアルコール、アミン等を繰り返し反応させて、R5の種々の置換基を有するポリマーを合成し、次いで、ポドフィロトキシン類を縮合させてもよい。又、ポドフィロトキシン類を縮合させた後に、(C1~C30)アルコキシ基、(C7~C30)アラルキルオキシ基、(C1~C30)アルキルアミノ基、ジ(C1~C30)アルキルアミノ基若しくはカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を縮合させてもよい。

[0047] ただし、本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体の製造法は上記の方法に限定されるわけではない。

[0048] 本発明には、本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤も含まれる。該高分子結合体は、注射剤、錠剤、散剤等の通常使用されている剤型にて使用され得る。製剤化に当たり通常使用されている薬学的に許容される担体

や、例えば、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、溶剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、保存剤、無痛化剤、色素、香料等が使用できる。中でも注射剤としての使用が好ましく、通常、例えば、水、生理食塩水、5%ブドウ糖又はマンニトール液、水溶性有機溶媒(例えば、グリセロール、エタノール、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリドン、ポリエチレングリコール、クレモフォア等又はそれらの混合液)あるいは水と該水溶性有機溶媒の混合液等が使用される。

- [0049] 本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体の投与量は、患者の性別、年齢、生理的状态、病態等により当然変更され得るが、例えば、非経口的に、通常、成人1日当たり、活性成分として $0.01 \sim 500 \text{mg/m}^2$ 、好ましくは $0.1 \sim 250 \text{mg/m}^2$ を投与する。注射による投与は、静脈内、動脈内、患部(腫瘍部)等に行われる。

### 実施例

- [0050] 以下、本発明を実施例により更に具体的に説明するが、本発明がこれらの実施例に限定されるものではない。

#### [0051] 実施例1

化合物1(分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が35のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体とエトポシドとの結合体:一般式(I)の $R_1 = \text{Me}$ (メチル基)、 $R_2 = \text{トリメチレン基}$ 、 $R_3 = \text{Ac}$ (アセチル基)、 $R_4 = \text{エトポシド残基}$ 、 $R_5 = \text{イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基}$ 、 $d+e+f+g+h+i+j=35$ 、 $t=273$ )の合成

特許文献3に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(アスパラギン酸の重合数35、1.80g)と市販のエトポシド(700mg)をDMF(70ml)に溶解し、DMAP(72mg)、DIPC(1.25ml)を加え、25℃にて20時間攪拌した。反応液にエタノール(105ml)、酢酸エチル(105ml)及びジイソプロピルエーテル(840ml)を加え、室温にて120分攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、100ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル/水(1/1(v/v)、210ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製ダウエックス50( $\text{H}^+$ )、15ml)に通塔し、アセトニトリル/水(1/1(v/v)、30ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(140ml)を加えアセ

トニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物1(2.06g)を得た。

[0052] HPLC(高速液体クロマトグラフィー)による反応液中の未反応エトポシド量の計量から、化合物1中のエトポシド含量は16.5%(w/w)、d+e+f+g+h+i+jに対するd+eの割合は15%であった。化合物1中、遊離のエトポシドは未検出であった。

[0053] 本方法によりR5としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基を付加することができ、その存在比は化合物1を重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの<sup>1</sup>H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、化合物1におけるイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、d+e+f+g+h+i+jに対するf+gの割合は19.6%だった。その他のアスパラギン酸は遊離カルボン酸(h+i)あるいは環状構造(j)である。

[0054] 実施例2

化合物2(分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が35のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体とポドフィロトキシンとの結合体:一般式(I)のR1=Me(メチル基)、R2=トリメチレン基、R3=Ac(アセチル基)、R4=ポドフィロトキシン残基、R5=イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基、d+e+f+g+h+i+j=35、t=273)の合成

特許文献3に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(アスパラギン酸の重合数35、226mg)と市販のポドフィロトキシン(106mg)をDMF(5ml)に溶解し、DMAP(12mg)、DIPC(0.16ml)を加え、25℃にて20時間攪拌した。反応液にエタノール(15ml)及びジイソプロピルエーテル(60ml)を加え、室温にて120分攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、10ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル/水(1/1(v/v)、10ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製ダウエックス50(H<sup>+</sup>), 2.5ml)に通塔し、アセトニトリル/水(1/1(v/v)、5ml)にて溶出した。得られた溶出面分に水(10ml)を加えアセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって化合物2(220mg)を得た。

[0055] HPLC(高速液体クロマトグラフィー)による反応液中の未反応ポドフィロトキシン量

の計量から、化合物2中のポドフィロトキシン含量は10.6% (w/w)、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $d+e$ の割合は13.1%であった。化合物2中、遊離のポドフィロトキシンは未検出であった。

[0056] 本方法によりR5としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基を付加することができ、その存在比は化合物2を重水酸化ナトリウム／重水／重アセトニトリルに溶解したものの $^1\text{H-NMR}$ から求められ、化合物2におけるイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $f+g$ の割合は15.2%だった。その他のアスパラギン酸は遊離カルボン酸( $h+i$ )あるいは環状構造( $j$ )である。

[0057] 実施例3

化合物3(分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が33のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体とポドフィロトキシンの結合体：一般式(I)の $R1=\text{Me}$ (メチル基)、 $R2=\text{トリメチレン基}$ 、 $R3=\text{Ac}$ (アセチル基)、 $R4=\text{ポドフィロトキシン残基}$ 、 $R5=\text{イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基}$ 又は $\text{O-ベンジル-フェニルアラニル基}$ 、 $d+e+f+g+h+i+j=33$ 、 $t=273$ )の合成

特許文献3に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(アスパラギン酸の重合数33、464.4mg)と市販のポドフィロトキシン(100mg)をDMF(6ml)に溶解し、DMAP(12mg)、DIPC(0.09ml)を加え、15℃にて20時間攪拌した。続いてフェニルアラニンベンジルエステル塩酸塩(36.8mg)、トリエチルアミン(0.02ml)及びDIPC(0.23ml)を加え、15℃にてさらに20時間攪拌し、その後さらに25℃にて4時間攪拌した。反応液に酢酸エチル(10ml)、エタノール(10ml)及びジイソプロピルエーテル(80ml)を加え、室温にて30分攪拌した後沈析物を濾取し、エタノール／ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、20ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル／水(1/1(v/v)、20ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製ダウエックス50( $\text{H}^+$ )、3ml)に通塔し、アセトニトリル／水(1/1(v/v)、20ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(25ml)を加え、アセトニトリルを減圧下留去し、その後凍結乾燥することによって化合物3(580mg)を得た。

[0058] HPLC (高速液体クロマトグラフィー) による反応液中の未反応ポドフィロトキシン量の計量から、化合物3中のポドフィロトキシン含量は13.7% (w/w)、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $d+e$ の割合は19%であった。化合物3中、遊離のポドフィロトキシンは未検出であった。

[0059] R5の一つとして導入したO-ベンジルフェニルアラニル基は、化合物3をアセトニトリル-水酸化ナトリウム水溶液中40°Cで6時間加水分解し、溶出したベンジルアルコールを定量することから求められ、O-ベンジルフェニルアラニル基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $f+g$ の割合は、O-ベンジルフェニルアラニル基が結合したものについては13%であった。

[0060] 又、R5としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基も導入され、その存在比は化合物3を重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの $^1\text{H}$ -NMR (水素核磁気共鳴スペクトル) から求められる。イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $f+g$ の割合は、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基が結合したものについては15%であった。この結果、R5の総量がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する、 $f+g$ 割合は28%であった。その他のアスパラギン酸は遊離カルボン酸 ( $h+i$ ) あるいは環状構造 ( $j$ ) である。

[0061] 比較例1

比較化合物1 (分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が23のポリグルタミン酸部分からなるブロック共重合体とエトポシドとの結合体) の合成

特開平5-955号公報に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体 (21mg) と市販のエトポシド (9.6mg) をDMF (1ml) に溶解し、DMAP (0.6mg)、DIPC (0.01ml) を加え、25°Cにて20時間攪拌した。反応液にエタノール (1.5ml)、酢酸エチル (1.5ml) 及びジイソプロピルエーテル (12ml) を加え、室温にて30分攪拌した後、沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル (1/4 (v/v), 2ml) で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル/水 (1/1 (v/v), 3ml) に溶解後、イオン交換樹脂 (ダウケミカル社製ダウエックス50 ( $\text{H}^+$ ), 0.2ml) に通塔し、アセトニトリル/水 (1/1 (v/v), 1ml) に



て溶出した。得られた溶出画分に水(1ml)を加えアセトニトリルを減圧下留去し、その後凍結乾燥することによって、比較化合物1(28.0mg)を得た。

[0062] HPLCによる反応液中の未反応エトポシド量の計量から比較化合物1中のエトポシド含量は23.8%(w/w)であった。比較化合物1中、遊離のエトポシドは未検出であった。

[0063] 比較例2

比較化合物2(分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が23のポリグルタミン酸部分からなるブロック共重合体とポドフィロトキシンとの結合体)の合成

特開平5-955号公報に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体(52mg)と市販のポドフィロトキシン(10mg)をDMF(1ml)に溶解し、DMAP(2mg)、DIPC(0.03ml)を加え、25℃にて20時間攪拌した。反応液にエタノール(3ml)及びジイソプロピルエーテル(12ml)を加え、室温にて30分攪拌した後沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、2ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル/水(1/1(v/v)、3ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製ダウエックス50(H<sup>+</sup>)、0.2ml)に通塔し、アセトニトリル/水(1/1(v/v)、1ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(1ml)を加えアセトニトリルを減圧下留去し、その後、凍結乾燥することによって、比較化合物2(64.3mg)を得た。

[0064] HPLCによる反応液中の未反応ポドフィロトキシン量の計量から比較化合物2中のポドフィロトキシン含量は16.0%(w/w)であった。比較化合物2中、遊離のポドフィロトキシンは未検出であった。

[0065] 試験例1

化合物1の酵素非存在下での薬剤放出

化合物1又は比較化合物1を、PBS(リン酸緩衝生理食塩水;pH7.1)にポリマー濃度1mg/mlで溶解し、37℃にてインキュベートした。該高分子結合体より放出されたエトポシドを、HPLCにて分離し標準曲線を用いて定量した。定量値と高分子結合体の薬剤含有量から求めた全薬剤量との比を図1に示した。

[0066] 図1に明らかなように、本発明の高分子結合体(化合物1)は加水分解酵素がなくても24時間で85%以上のエトポシドを放出するのに対し、コハク酸モノアミド構造部分を持たない比較化合物1は24時間でもほとんどエトポシドを放出しない。この結果は本発明のエトポシド類の高分子結合体が酵素非存在下で優れた薬剤放出性能を有していることを示している。

[0067] 試験例2

化合物2、3の酵素非存在下での薬剤放出

化合物2、3又は比較化合物2を、PBS(リン酸緩衝生理食塩水;pH7.1)にポリマー濃度で1mg/mlで溶解し、37℃にてインキュベートした。該高分子結合体より放出されたポドフィロトキシンを、HPLCにて分離し標準曲線を用いて定量した。定量値と高分子結合体の薬剤含有量から求めた全薬剤量との比を図2に示した。

図2に明らかなように、本発明の高分子結合体(化合物2及び3)は加水分解酵素がなくても24時間で10~60%以上のポドフィロトキシンを放出するのに対し、コハク酸モノアミド構造部分を持たない比較化合物2は24時間でもポドフィロトキシンをほとんど放出しない。この結果は本発明のポドフィロトキシン類の高分子結合体が酵素非存在下で優れた薬剤放出性能を有していることを示している。又、薬剤放出性能を自由に制御できることも示している。

[0068] 試験例3

化合物1の抗腫瘍作用

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26を約2mm角のブロックにし、套管針を用いて雌性CDF1マウスの背側部皮下に移植した。腫瘍移植後7日目に本発明の高分子結合体(化合物1)又は対照薬(エトポシド、ETP)を、マウス尾静脈内に単回投与した。コントロールは薬物を投与しない群である。化合物1は5%ブドウ糖注射液で溶解し用いた。ETPはラステット注(日本化薬社製)を5%ブドウ糖注射液で希釈して用いた。投与後、腫瘍の長径(Lmm)及び短径(Wmm)を、ノギスを用いて計測し、腫瘍体積を $(L \times W^2) / 2$ により計算して投与日の腫瘍体積に対する相対腫瘍体積として表1に示した。又、その際の体重の推移を、投与日の体重に対する相対体重として表1に示した。

[0069] [表1]

		投与後日数		
		0	4	8
化合物 1 450mg/kg	相対腫瘍体積	1.00	0.86	1.69
	相対体重	1.00	0.87	0.97
ETP 90mg/kg	相対腫瘍体積	1.00	1.17	3.79
	相対体重	1.00	0.87	0.97
コントロール	相対腫瘍体積	1.00	5.02	11.59
	相対体重	1.00	0.98	0.82

[0070] 表1から、本発明の高分子結合体は、ETP(90mg/kg)と同じ程度の体重減少が起こる投与量(450mg/kg)においてETPより優れた抗癌活性を有し、抗癌剤となることが示された。

[0071] 試験例4 化合物2及び3の抗腫瘍作用

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26を約2mm角のブロックにし、套管針を用いて雌性CDF1マウスの背側部皮下に移植した。腫瘍移植後7日目(表2中、投与開始日)に本発明の高分子結合体(化合物2及び化合物3)又は対照薬(ポドフィロトキシン、POD)を、マウス尾静脈内に投与した。化合物2及び化合物3は5%ブドウ糖注射液で溶解したものを一回投与した。コントロールは薬物を投与しない群である。PODはシグマ社から購入し、ジメチルスルホキシド及び5%ブドウ糖注射液で希釈したものを、投与開始日より5日間連続で投与した。投与後、腫瘍の長径(Lmm)及び短径(Wmm)を、ノギスを用いて計測し、腫瘍体積を $(L \times W^2) / 2$ により計算し、投与開始日の腫瘍体積に対する相対腫瘍体積として表2に示した。また、その際の体重の推移を、投与開始日の体重に対する相対体重として表2に示した。

[0072] [表2]

		投与開始日後の日数			
		0	3	5	8
化合物2 75mg/kg を一回投与	相対腫瘍体積	1.00	0.82	0.80	2.24
	相対体重	1.00	0.96	0.99	1.00
化合物3 75mg/kg を一回投与	相対腫瘍体積	1.00	1.79	2.05	3.26
	相対体重	1.00	0.95	0.98	0.94
POD 15mg/kg を連日5日間投与 (合計75mg/kg)	相対腫瘍体積	1.00	1.58	1.79	6.08
	相対体重	1.00	1.01	0.96	0.98
コントロール	相対腫瘍体積	1.00	3.01	4.38	6.52
	相対体重	1.00	0.99	0.97	0.86

[0073] 表2から、本発明の高分子結合体は、POD(15mg/kg/日、5日間連日投与)と同じ程度の体重減少が起こる投与量(75mg/kg)において、単回投与にもかかわらずPODより優れた抗癌活性を有し、抗癌剤となることが示された。

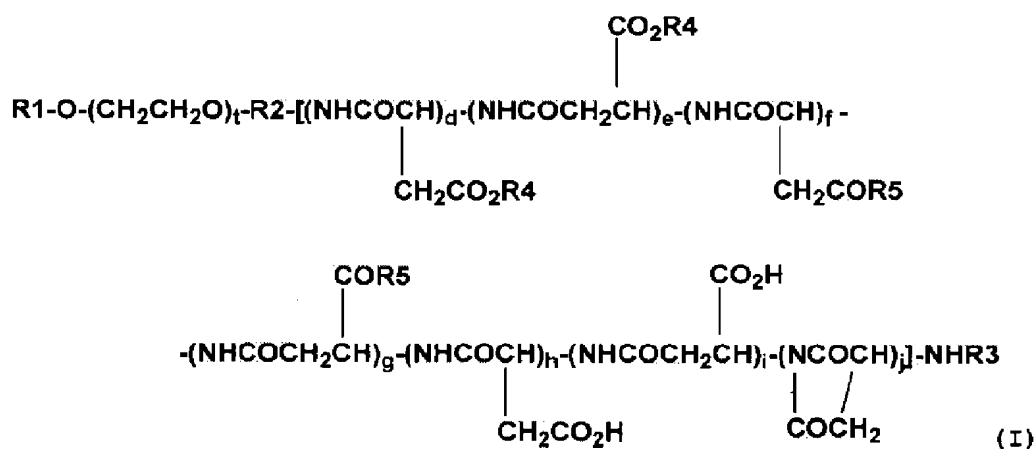
#### 図面の簡単な説明

[0074] [図1]本発明の化合物1(ブロック共重合体のポリアスパラギン酸にエトポシドが結合した高分子誘導体)と比較化合物1(ブロック共重合体のポリグルタミン酸にエトポシドが結合した高分子誘導体)のPBS溶液(pH7.1、37℃)中でのエトポシドの全結合量に対するエトポシドの放出量の割合。図1中、—●—は本発明の化合物1、—○—は比較化合物1の放出量の割合を示す。

[図2]本発明の化合物2及び化合物3(ブロック共重合体のポリアスパラギン酸にポドフィロトキシンが結合した高分子誘導体)と比較化合物2(ブロック共重合体のポリグルタミン酸にポドフィロトキシンが結合した高分子誘導体)のPBS溶液(pH7.1、37℃)中でのポドフィロトキシンの全結合量に対するポドフィロトキシンの放出量の割合。図2中、—◆—は本発明の化合物2、—▲—は本発明の化合物3、—◇—は比較化合物2の放出量の割合を示す。

## 請求の範囲

- [1] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基がエステル結合しているポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [2] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーがブロック共重合体である請求項1記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [3] 2以上のコハク酸モノアミド構造部分がポリアスパラギン酸である請求項2記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [4] 高分子結合体が一般式(I)
- [化5]

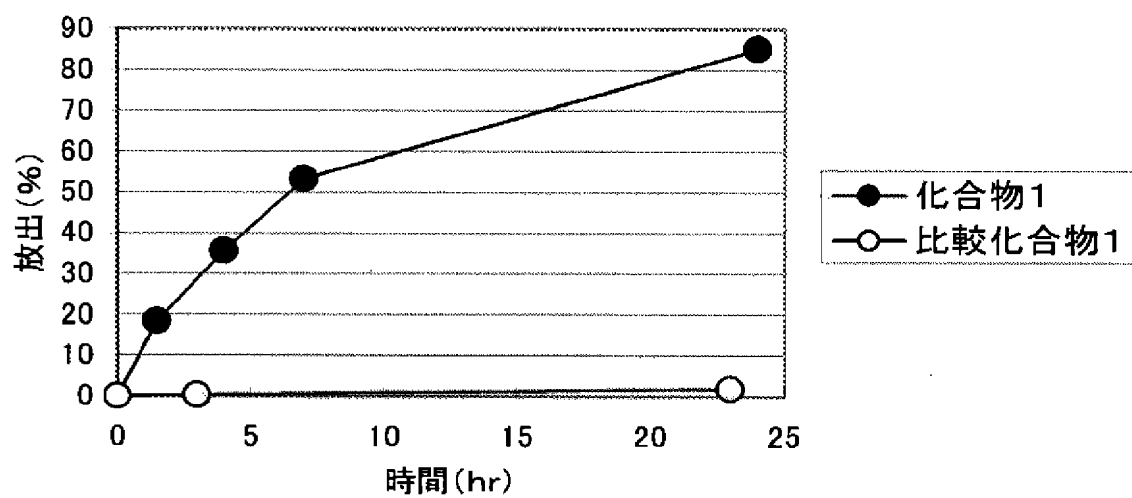


[式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はポドフィロトキシン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、d、e、f、g、h、i及びjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つ、d+e+f+g+h-i+jは3～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の

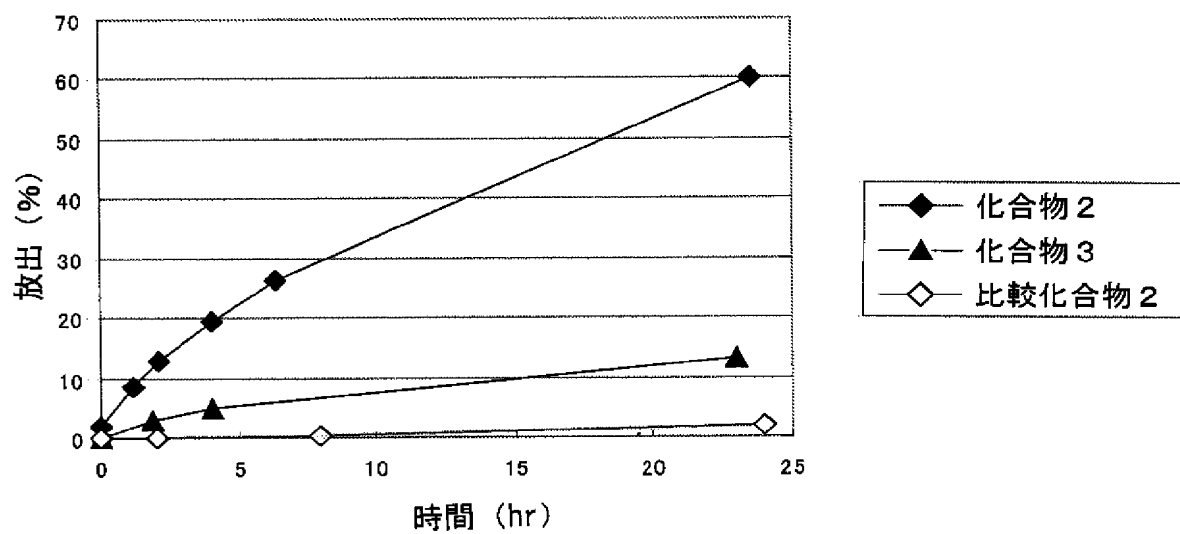
各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物である請求項3記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。

- [5] R1が(C1～C6)アルキル基であり、R2が(C2～C6)アルキレン基であり、R3が(C1～C6)アシル基であり、tが8～2300の整数であり、d、e、f、g、h、i及びjが各々独立に0～100の整数であり、ただしd+eは1～100の整数であり、且つd+e+f+g+h+i+jが6～100の整数である請求項4記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [6] R1が(C1～C3)アルキル基であり、R2が(C2～C4)アルキレン基であり、R3が(C1～C3)アシル基であり、tが100～300の整数であり、d、e、f、g、h、i及びjが各々独立に0～90の整数であり、ただしd+eは1～90の整数であり、且つ、d+e+f+g+h+i+jが15～90の整数である請求項5記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [7] ポドフィロトキシン類がポドフィロトキシン、エトポシド又はテニポシドである請求項1～6のいずれか一項に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [8] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることで得られる、ポドフィロトキシン類の高分子結合体。
- [9] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーのカルボン酸基と、ポドフィロトキシン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることを特徴とする請求項1～7のいずれか一項に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体の製造方法。
- [10] 請求項1～8のいずれか一項に記載のポドフィロトキシン類の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤。

[図1]



[図2]



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/060026

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <i>C08G81/00</i> (2006.01) i, <i>A61K31/365</i> (2006.01) i, <i>A61K31/7048</i> (2006.01) i, <i>A61K47/34</i> (2006.01) i, <i>A61K47/48</i> (2006.01) i, <i>A61P35/00</i> (2006.01) i, <i>C08G85/00</i> (2006.01) i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <i>C08G81/00</i> , <i>A61K31/365</i> , <i>A61K31/7048</i> , <i>A61K47/34</i> , <i>A61K47/48</i> , <i>A61P35/00</i> , <i>C08G85/00</i>  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 62-96088 A (Kanebo, Ltd.), 02 May, 1987 (02.05.87), Claims; page 2, lower right column (Family: none)	1-10
A	JP 62-145093 A (Bristol-Myers Co.), 29 June, 1987 (29.06.87), Claims & US 4734512 A1 & EP 224938 A2	1-10
A	JP 63-10789 A (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 13 January, 1988 (13.01.88), Claims (Family: none)	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 08 August, 2007 (08.08.07)		Date of mailing of the international search report 21 August, 2007 (21.08.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/060026

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 63-23884 A (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 01 February, 1988 (01.02.88), Claims (Family: none)	1-10
A	JP 64-61422 A (Zaidan Hojin Biseibutsu Kagaku Kenkyukai, Nippon Kayaku Co., Ltd.), 08 March, 1989 (08.03.89), Claims (Family: none)	1-10
A	JP 64-61423 A (Zaidan Hojin Biseibutsu Kagaku Kenkyukai, Nippon Kayaku Co., Ltd.), 08 March, 1989 (08.03.89), Claims (Family: none)	1-10
Y	JP 10-513187 A (ENZON, INC.), 15 December, 1998 (15.12.98), Claims & WO 94/4193 A1 & US 5614549 A	1-10
Y	JP 2003-509385 A (Nobex Corp.), 11 March, 2003 (11.03.03), Claims & WO 01/9406 A2 & US 6713454 B1	1-10
A	JP 2003-511349 A (Fannin Bioscience, Inc.), 25 March, 2003 (25.03.03), Claims & WO 00/61788 A1 & US 2001-41189 A & EP 1251739 A	1-10
A	JP 2003-525238 A (Janssen Pharmaceutica N.V.), 26 August, 2003 (26.08.03), Claims & WO 01/64098 A2 & EP 1267871 A	1-10
Y	JP 2694923 B2 (Japan Science and Technology Corp.), 12 September, 1997 (12.09.97), Claims; Par. Nos. [0005], [0013], [0028] (Family: none)	1-10
X	JP 3268913 B2 (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 18 January, 2002 (18.01.02), Claims; Par. Nos. [0001], [0018], [0034] (Family: none)	1-10
Y		1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))			
Int.Cl. C08G81/00(2006.01)i, A61K31/365(2006.01)i, A61K31/7048(2006.01)i, A61K47/34(2006.01)i, A61K47/48(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C08G85/00(2006.01)i			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))			
Int.Cl. C08G81/00, A61K31/365, A61K31/7048, A61K47/34, A61K47/48, A61P35/00, C08G85/00			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2007年 日本国実用新案登録公報 1996-2007年 日本国登録実用新案公報 1994-2007年			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
A	JP 62-96088A (鐘紡株式会社) 1987.05.02, 特許請求の範囲、2頁右下欄 (ファミリー無し)	1~10	
A	JP 62-145093A (ブリストル・マイアーズ・コムパニー) 1987.06.29, 特許請求の範囲 & US 4734512 A1 & EP 224938 A2	1~10	
A	JP 63-10789A (日本化薬株式会社) 1988.01.13, 特許請求の範囲 (ファミリー無し)	1~10	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 08.08.2007		国際調査報告の発送日 21.08.2007	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (I S A / J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 船岡 嘉彦 電話番号 03-3581-1101 内線 3457	4 J 6958

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 6 3 - 2 3 8 8 4 A (日本化薬株式会社) 1 9 8 8 . 0 2 . 0 1 , 特許請求の範囲 (ファミリー無し)	1 ~ 1 0
A	JP 6 4 - 6 1 4 2 2 A (財団法人微生物化学研究会、日本化薬株 式会社) 1 9 8 9 . 0 3 . 0 8 , 特許請求の範囲 (ファミリー無し)	1 ~ 1 0
A	JP 6 4 - 6 1 4 2 3 A (財団法人微生物化学研究会、日本化薬株 式会社) 1 9 8 9 . 0 3 . 0 8 , 特許請求の範囲 (ファミリー無し)	1 ~ 1 0
Y	JP 1 0 - 5 1 3 1 8 7 A (エンゾン、インコーポレーテッド) 1 9 9 8 . 1 2 . 1 5 , 特許請求の範囲 & W O 9 4 / 4 1 9 3 A 1 & U S 5 6 1 4 5 4 9 A	1 ~ 1 0
Y	JP 2 0 0 3 - 5 0 9 3 8 5 A (ノベックス、コーポレイション) 2 0 0 3 . 0 3 . 1 1 , 特許請求の範囲 & W O 0 1 / 9 4 0 6 A 2 & U S 6 7 1 3 4 5 4 B 1	1 ~ 1 0
A	JP 2 0 0 3 - 5 1 1 3 4 9 A (ファニン バイオサイエンス、イン ク.) 2 0 0 3 . 0 3 . 2 5 , 特許請求の範囲 & W O 0 0 / 6 1 7 8 8 A 1 & U S 2 0 0 1 - 4 1 1 8 9 A & E P 1 2 5 1 7 3 9 A	1 ~ 1 0
A	JP 2 0 0 3 - 5 2 5 2 3 8 A (ジャンセン・ファーマシユーチカ・ ナムローゼ・フェンノートシャップ) 2 0 0 3 . 0 8 . 2 6 , 特許 請求の範囲 & W O 0 1 / 6 4 0 9 8 A 2 & E P 1 2 6 7 8 7 1 A	1 ~ 1 0
Y	JP 2 6 9 4 9 2 3 B2 (科学技術振興事業団) 1 9 9 7 . 0 9 . 1 2 , 特許請求の範囲、段落【0 0 0 5】、段落【0 0 1 3】、段落【0 0 2 8】(ファミリー無し)	1 ~ 1 0
X Y	JP 3 2 6 8 9 1 3 B2 (日本化薬株式会社) 2 0 0 2 . 0 1 . 1 8 , 特 許請求の範囲、段落【0 0 0 1】、段落【0 0 1 8】、段落【0 0 3 4】 (ファミリー無し)	1 ~ 1 0 1 ~ 1 0